

РОЛЬ КАЛЬЦИЙАКТИВИРУЕМЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ БОЛЬШОЙ ПРОВОДИМОСТИ В КАЛИЙОПОСРЕДУЕМОМ СОКРАЩЕНИИ КОЛЬЦА АОРТЫ КРЫСЫ ПОСЛЕ 6-ЧАСОВОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Майорова С.С., Солодков А.П.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Кальцийактивируемые калиевые каналы были обнаружены в различных клетках: мышечных, нервных, эндокринных [4]. Вызывая гиперполяризацию, они играют центральную роль в расслаблении сосудистой гладкой мышцы, оказывая демпфирующий эффект на зависимость от деполаризации активацию кальциевых каналов, ограничивают количество входящего внутрь клетки ионов кальция, что способствует вазодилатации. Таким образом, BK_{Ca} -каналы, по принципу отрицательной обратной связи противодействуют миогенной вазоконстрикции и развитию вазоспазма. Кроме того, эти каналы могут быть активированы сосудорасширяющими веществами или физическими факторами, вроде внутрисосудистого давления, действующими через Ca^{2+} и CaM -зависимые механизмы [3], а также оказывающими влияние на частоту и амплитуду Ca^{2+} залпов [5] из саркоплазматического ретикулума гладких миоцитов.

При длительном эмоциональном стрессе, по сути, являющемся дистрессом, происходит значительное нарушение как системного, так и локального кровообращения. Данный факт связан с активацией свободнорадикального окисления и гиперпродукцией эндотелием артериальных сосудов монооксида азота, который, взаимодействуя с образующимся в избытке супероксиданионами, превращается в пероксинитрит, обладающий выраженной способностью к повреждению клеточных структур [1,2].

Целью работы было выяснить влияние стресса на роль кальцийактивируемых калиевых каналов большой проводимости гладкомышечных клеток в калийопосредуемом сокращении кольца аорты крысы.

Материалы и методы. Опыты были проведены на денудированных препаратах изолированного кольца аорты крыс линии Вистар. Один конец кольцевого сегмента аорты жестко фиксировали в ванночке, объемом 12 мл, а другой прикрепляли к рычажку датчика силы (HSE F30 Type372, Германия). Препарат функционировал в изометрическом режиме. Регистрацию напряжения препарата, сокращающегося в изометрическом режиме, осуществляли при помощи модульного усилителя TAM-A HSE (Германия). Данные заносили в компьютер, где обрабатывались при помощи программы HSE ACAD (Германия). Деполаризацию кольца аорты вызывали возрастающей концентрацией раствора калия хлорида от 2,35 М до 73,5 М. Блокаду кальцийактивируемых калиевых каналов вызывали тетраэтиламмонием в концентрации 1мМ (Sigma). Эндотелий удаляли хлопчатобумажной нитью, которую осторожно прокручивали внутри изолированного кольца аорты.

Результаты эксперимента выражали как среднее арифметическое плюс-минус ошибка средней величины $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$. Статистическую обработку полученных

экспериментальных данных проводили при помощи программного обеспечения «Статистика 6.0» Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Концентрацию калия хлорида, вызывающую полумаксимальное сокращение рассчитывали с использованием программы Prism Graph Pad (San Diego, USA).

Результаты и обсуждение. Исходное напряжение кольца аорты во всех исследуемых группах животных не различалось и равнялось приблизительно 2г. Следовательно, исходные условия для действия калия хлорида были одинаковыми. В контрольной группе животных сократительный ответ изолированного кольца аорты крысы на возрастающие концентрации калия хлорида проявлялся при концентрации 23,5 М и составил 23% от исходного напряжения, а при концентрации 73,5 М ответная реакция была 88% (рис. 1А). Концентрация калия хлорида, вызывающая полумаксимальное сокращение изолированного кольца аорты крысы (EC_{50}) составила 43,42мМ (42,6-44,2ММ, таблица 1).

Таблица 1. Чувствительность изолированного кольца крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию к хлористому калию

Группа	EC_{50} , мМ	95% доверительный интервал, мМ	Log EC_{50}
Контроль Э-	43,42	42,6-44,2	-1,362±0,004
Контроль Э- ТЭА	32,06*	30,9-33,2	-1,494±0,008*
Стресс Э-	41,71	40,9-42,5	-1,380±0,004
Стресс Э- ТЭА	40,71#	38,8-42,7	-1,390±0,009#

*- $p < 0,05$ по сравнению с группой "контроль Э -".

#- $p < 0,05$ по сравнению с группой "контроль Э -ТЭА".

После добавления в ванночку для перфузии блокатора кальцийактивируемых калиевых каналов калийопосредуемая деполяризация кольца аорты начиналось при концентрации калия в растворе 16,45 М и достигало максимального значения при концентрации 73,5М, составляя 120% от исходного напряжения кольца аорты крысы. EC_{50} в данной группе животных уменьшалась на 26% (таблица 1). Таким образом, блокада кальцийактивируемых калиевых каналов увеличивала чувствительность гладкомышечных клеток к ионам калия и силу сокращения препарата. Данный факт указывает на существующую в норме высокую функциональную активность BK_{Ca} -каналов существенно противодействующую сократительной активности гладкомышечных клеток, вызываемой ионами кальция.

В группе животных, перенесших 6-часовой иммобилизационный стресс, возрастающие концентрации раствора калия вызывали дозозависимое сокращение кольца, причем реакция кольца начиналась при концентрации калия хлорида 23,5 М, составляя 21% от исходного напряжения, достигая максимума при 73, 5М 76% (в контроле 88%, рис. 1А) Значение EC_{50} при этом не изменялось (таблица 1). Таким образом, при стрессе сила сокращения изолированного кольца аорты в ответ на повышение концентрации ионов калия уменьшается, в то время как чувствительность остается такой же, как в контрольной группе животных (рис.1 А, Б). После блокады BK_{Ca} -каналов в группе стрессированных животных ответная реакция кольца аорты на возрастающие концентрации калия хлорида и чувствительность к нему не отличались от показателей, полученных на

изолированном кольце аорты этой же группы, но не обработанных тетраэтиламмонием. Таким образом, при стрессе функциональная активность кальцийактивируемых калиевых каналов гладкомышечных клеток коронарных сосудов не выражена.

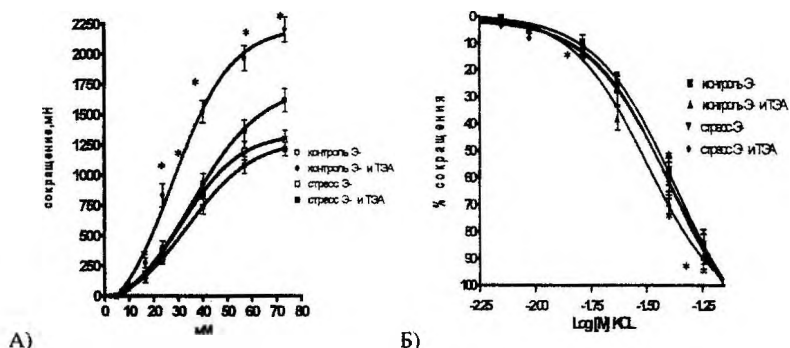


Рисунок 1. Влияние тетраэтиламмония на KCL-индуцированное сокращение (А) и чувствительность к деполяризующим концентрациям ионов калия (Б) изолированного кольца аорты крыс, перенесших 6-часовую иммобилизацию.

*- $p < 0,05$ по сравнению с группой "контроль Э -".

Выводы.

1. Блокада кальцийактивируемых калиевых каналов большой проводимости увеличивает сократительный эффект и чувствительность аортальных колец контрольных животных к возрастающим концентрациям ионов калия, что свидетельствует о выраженном вкладе BK_{Ca} механизма в противодействии сокращению гладкомышечных клеток аорты, вызываемому деполяризующими концентрациями ионов калия.

2. 6-часовой иммобилизационный стресс снижает сократительную активность кольца аорты, индуцированную возрастающими концентрациями ионов калия, а также устраняет вызываемое тетраэтиламмонием увеличение сократительной активности и чувствительности к ионам калия, что свидетельствует о развивающемся под влиянием стресса значительном подавлении функциональной активности BK_{Ca} -каналов гладкомышечных клеток аорты.

Литература:

1. Меерсон Ф. З. Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина. - 1988. - 252 С.
2. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца // М.: Медицина, 1984.-216 С.
3. Nelson M.T., Quayle J.M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. Am. J. Physiol. 268 : C799-C822. 1995.
4. Nilius, B., Viana, F., Droogmans, G. Ion channels in vascular endothelium Annu. Rev. Physiol. 59 : 145-170. 1997a.
5. Jaggar J.H., Stevenson A.S., Nelson M.T. Voltage dependence of Ca^{2+} sparks in intact cerebral arteries Am. J. Physiol. 274 : 1755-1761. 1998.